

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

آنالیز شیمیایی مولکول های زیستی

مؤلفین:

Andreas Manz

Nicole pamme

Dimitri lossifidis

مترجمین:

دکتر خاطره خرسندی - پروفیسور عذرا ربانی چلدانی

استاد دانشگاه تهران

دکتری بیوشیمی



اندیشه آور

۱۳۹۲

سرشناسه	منز، آندریاس، ۱۹۵۶ - م.
عنوان و نام پدیدآور	(Manz, A. (Andreas)
مشخصات نشر	آنالیز شیمیایی مولکول‌های زیستی/مولفین [آندریاس منز، نیکول پم، دیمتری یوسیفیدیس] ۱ مترجمین خاطره خرسندی، عذرا ربانی چادگانی. تهران: اندیشه‌آور، ۱۳۹۲.
مشخصات ظاهری	۲۱۰ ص:؛ مصور، جدول.
شابک	978-964-8682-63-2: ۹۵۰۰۰ ویل
وضعیت فهرست نویسی	فنی
یادداشت	Bioanalytical chemistry. c2004.
یادداشت	واژه‌نامه.
یادداشت	کتابنامه.
موضوع	زیست‌شیمی تجزیه
موضوع	شیمی تجزیه
شناسه افزوده	پم، نیکول
شناسه افزوده	Pamme, Nicole
شناسه افزوده	یوسیفیدیس، دیمتری
شناسه افزوده	Iossifidis, Dimitri
شناسه افزوده	خرسندی، خاطره، مترجم
شناسه افزوده	ربانی چادگانی، عذرا، مترجم
رده بندی کنگره	QP519V6A13492
رده بندی دیویی	۵۷۲/۳۲
شماره کتبی‌شناسی ملی	۳۱۸۷۵۲۱



انديشه آوار

آنالیز شیمیایی مولکول‌های زیستی

ترجمه:

دکتر خاطره خرسندی

دکتر عذرا ربانی چادگانی

ناشر: انتشارات اندیشه آور

مدیر تولید: علی کاظمیان آسکی

شمارگان ۱۰۰۰ نسخه

نوبت چاپ: اول ۱۳۹۲

بهاء: ۹۵۰۰ تومان

شابک: ۹۷۸-۹۶۴-۸۶۸۲-۶۳-۲

دفتر مرکزی: تهران. کارگر شمالی. نرسیده به بلوار کشاورز. خیابان قنر. پلاک ۱۶. واحد یک. انتشارات اندیشه آور

تلفکس: ۵۷۹-۶۶۵۷۰ همراه: ۵۷۸-۰۹۱۲۱۵۰۷

www.AndishehAvarBook.com

Email: AndishehAvar@yahoo.com

پیشگفتار مؤلفین

در زمانی که تعیین توالی ژنوم انسان اخیراً کامل شده است، جوایز نوبل به مخترعین ابزار زیست شیمی داده می‌شود و وقتی که خواندن مجلاتی مثل *science* یا *Nature* برای شیمیدان‌ها بخاطر حجم واژه‌های زیست مولکولی موجود در این چاپ‌های انبوه ... و دقیقاً در این زمان، تهیه یک کتاب مقدماتی کوچک که اغلب روش‌های ابزاری شیمی تجزیه مورد استفاده در زیست مولکولی را پوشش دهد، ضروری به نظر می‌رسد. افزایش ارتباط بین علوم و تحقیقات مدرن، داشتن حداقل دانش از علوم جنبی را برای محققان زمینه‌های مختلف جهت ارتباط موثر با یکدیگر ضروری می‌سازد.

سالهاست که، پروفیسور مانز^۱ درس « آنالیز شیمیایی مولکولهای زیستی » را در کالج سلطنتی^۲، بدون اینکه یک کتاب مناسب برای این درس وجود داشته باشد، تدریس می‌کند، البته هر بخشی میتوانست در سایر کتاب‌های پیوشیمی، اسپکترومتری چرمی، جداسازی‌ها یا شیمی تجزیه یافت شود. اما، با توجه به اهمیت مولکول‌های زیستی در تحقیقات علمی و صنعتی اخیر باعث تعجب است که این موضوع هنوز در کتاب‌های شیمی تجزیه منعکس نشده است. لذا، نوشتن یک کتاب که همه جوانب آنالیز مولکول‌های زیستی را در بر گیرد، لازم بنظر می‌رسید.

این کتاب در اصل برای دانشجویان شیمی در نظر گرفته می‌شود، اما به عنوان مرجع برای دانشجویان، مدرسین و محققین صنعتی در علوم پزشکی و زیست شناسی که به روش‌های آنالیز زیستی علاقه دارند نیز مفید می‌باشد. بنظر می‌رسد که اصول پایه روش‌های ابزاری شیمی دانش عمومی هستند. موضوع مهم این کتاب این است که نشان می‌دهد چگونه روش‌های تجزیه ای با خواص ویژه مولکولهای زیستی متاثر می‌شوند. اولویت انتخاب روش‌های ابزاری برای آنالیز مولکول‌هایی مثل *DNA* و پروتئین‌ها با روش‌های موجود برای شیمی تجزیه کلاسیک تفاوت دارد (خلاصه فصل ۱ را ببینید). نمونه‌های حاوی مولکول‌های کوچک می‌توانند به وسیله کروماتوگرافی مایع یا گازی مشخص شوند، ولی هنگامی که تعیین توالی *DNA* یا تجزیه پروتئومیکی مطرح می‌شود، قدرت جداسازی قوی مورد نیاز است. ازاینرو، دانشجویان باید درک روشنی از تمرکز اینوالکتریک یا جداسازی از طریق ژل دوفیدی برای

راحتی کار با کروماتوگرافی داشته باشند. روش‌های دیگر شرح داده شده در این کتاب ممکن است برای شیمی‌دانها کاملاً جدید باشد. برای مثال، واکنش زنجیره پلیمرز مورد استفاده برای تکثیر DNA یا واکنش سنکر برای تعیین توالی DNA، روشهایی که طی آنها واکنش‌های شیمیایی با مواد اولیه کم برای تولید صدها محصول انجام می‌گیرند.

در فصل اول این کتاب، یک مقدمه کلی از مولکول‌های زیستی ذکر می‌شود. این مطلب با چندین فصل با شرح روشهای انبساطی متنوع و روش‌های تجزیه زیستی ادامه می‌یابد. این مطالب شامل، الکتروفورز، تمرکز ایزوالکتریک، *ESI-MS*، *MALDI-TOF*، سنجش‌های ایمنولوژیکی، زیست‌حسگرها، ردیف‌های DNA، PCR و تعیین توالی DNA و پروتئین می‌باشند. این کتاب بسیار ساده و قابل فهم برای یک کتاب مرجع نگارش شده است. لیست مراجع در انتهای هر فصل برای کسب اطلاعات بیشتر در هر موضوع خاص آورده شده‌اند. امیدواریم، این کتاب برای دانشجویان و مدرسین مفید باشد، پویژه زمانی که هر فارغ‌التحصیل شیمی پایستی با روشهای آنالیز آشنا باشد. نویسندگان از دکتر الکساندر ایلز برای نظراتشان روی دست‌نوشته کتاب تشکر می‌نمایند.

Andreas Manz, Nicole pamme, Dimitri Iossifidis
London, March 12, 2003

پیشگفتار مترجمین

ما کرومولکول های حیاتی که اساس جسم زنده را تشکیل می دهند در پیوشیمی از توجه خاصی برخوردارند. این مولکول ها متنوع بوده و پروتئین ها، اسید های نوکلئیک، کربوهیدرات ها و لیپید ها را در بر می گیرند. این مولکول ها اندازه بزرگ، ماهیت و خصوصیات ساختاری پیچیده ای دارند که بررسی آنها خصوصا جداسازی و تخلیص آنها را بسیار مشکل می سازد. در اغلب موارد این امر میسر نیست مگر با استفاده از یکسری روشهای دستگاهی خاص و سنگین. با اینکه کتاب های متعددی در مورد این مولکولها در پیوشیمی موجود است لیکن کتابی که بتواند نیازهای دانشجویان گروه های مختلف را از نظر استفاده از این روش ها بر طرف نماید بسیار کم است. لذا این موضوع ما را بر آن داشت تا این کتاب را انتخاب و به فضل الهی ترجمه نمائیم.

کتاب آنالیز شیمیایی مولکول های زیستی شامل هفت فصل است که با مقدمه ای بر مولکول های زیستی شروع و با ارائه روش های مختلف جداسازی و تخلیص مثل کروماتوگرافی، الکتروفورز، اسپکتروسکوپی، تعیین توالی ها ادامه می یابد. سعی شده مطالب با ترجمه ساده و روان بطوری که به محتوای علمی آن لطمه نزنند، تهیه گردد. این کتاب می تواند نیاز طیف وسیعی از دانشجویان مقاطع مختلف علوم پایه پزشکی را برآورده سازد. به رغم اینکه تمام تلاش و دقت ما بر این بود که مطالب بطور کامل، دقیق و روشن به فارسی برگردانده شوند، ممکن است اشکالاتی در متن وجود داشته باشد که از کلیه اساتید، صاحب نظران و دانشجویان صمیمانه تقاضا می شود نظرات خود را با ما در میان گذراند تا آن شالنه در چاپ های آینده مورد توجه قرار گیرند.

موفق و پیروز باشید

تابستان ۱۳۹۲

فصل اول: مولکول‌های زیستی

۱-۱- اسیدهای آمینه، پپتیدها و پروتئین‌ها	۱
۱-۱-۱- اسیدهای آمینه	۲
۱-۲- پپتیدها و پروتئین‌ها	۸
۲-۱- اسیدهای نوکلئیک	۱۶
۱-۲-۱- ساختار اسیدهای نوکلئیک	۱۶
۲-۲-۱- سنتز پروتئین‌ها	۲۱
۳-۱- مولکول‌های زیستی در شیمی تجزیه	۲۳
۱-۳-۱- شیمی تجزیه کلاسیک	۲۳
۲-۳-۱- محدودیت‌های شیمی تجزیه کلاسیک	۲۴
۳-۳-۱- شیمی تجزیه مولکول‌های زیستی	۲۵

فصل دوم: کروماتوگرافی

۱-۲- اصول کروماتوگرافی	۳۰
۲-۲- اساس تئوری کروماتوگرافی	۳۲
۳-۲- کاربرد کروماتوگرافی مایع برای آنالیز زیستی	۳۶
۱-۳-۲- کروماتوگرافی مایع فاز معکوس (RP-LC)	۳۷

۴۰----- ۲-۳-۲- کروماتوگرافی تعویض یونی (IEC)

۴۳----- ۳-۳-۲- کروماتوگرافی تمایلی

۴۶----- ۴-۳-۲- کروماتوگرافی تفکیک کننده براساس اندازه (SEC)

فصل سوم: الکتروفورز

۵۲----- ۱-۳- اصول و تئوری الکتروفورز

۵۳----- ۱-۱-۳- حرکت الکتروفورزی

۵۴----- ۲-۱-۳- گرمای ژل

۵۵----- ۳-۱-۳- جریان الکترواستاتی (EOF)

۵۸----- ۴-۱-۳- کارائی جداسازی و تفکیک

۶۱----- ۲-۳- ژل الکتروفورز (GE)

۶۲----- ۱-۲-۳- ابزار ژل الکتروفورز

۶۸----- ۲-۲-۳- روش های ژل الکتروفورز

۶۸----- ۳-۲-۳- سدیم دودسیل سولفات- پلی اکریل آمید ژل الکتروفورز (SDS-PAGE)

۶۹----- ۴-۲-۳- ایزوالکتریک فوکوسینگ (IEF)

۷۲----- ۵-۲-۳- ژل الکتروفورز دو بعدی (2D-GE)

۷۴----- ۳-۳- الکتروفورز موئینه

۷۶----- ۱-۳-۳- ابزار الکتروفورز موئینه

۸۰----- ۲-۳-۳- الکتروفورز موئینه منطقه ای (CZE)

۸۱----- ۳-۳-۳- ایزوالکتریک فوکوسینگ در لوله موئین (CIEF)

۸۳----- ۴-۳-۳- کروماتوگرافی الکتروکینتیک میسلی (MEKC)

۸۸----- ۵-۳-۳- ژل الکتروفورز موئینه (CGE)

فصل چهارم: اسپکترومتری جرمی

- ۹۱- ۱-۴ اصول اسپکترومتری جرمی
- ۹۲- ۱-۱-۴ یونیزاسیون
- ۹۳- ۲-۱-۴ تجزیه کننده جرمی
- ۹۳- ۳-۱-۴ ردیاب
- ۹۳- ۲-۴ اسپکترومتری جرمی MALDI-TOF
- ۹۴- ۱-۲-۴ اصول یونیزاسیون
- ۹۶- ۲-۲-۴ تجزیه جرمی در تجزیه کننده زمان گریز
- ۹۹- ۳-۲-۴ ردیابی یونها
- ۹۹- ۴-۲-۴ تفکیک
- ۱۰۰- ۵-۲-۴ پیش تیمار نمونه
- ۱۰۲- ۶-۲-۴ کاربردهای MALDI
- ۱۰۵- ۳-۴ اسپکترومتری جرمی ESI
- ۱۰۵- ۱-۳-۴ اصول یونیزاسیون
- ۱۰۷- ۲-۳-۴ منبع ESI وحد فاصل
- ۱۰۸- ۳-۳-۴ تجزیه کننده چهار قطبی
- ۱۰۹- ۴-۳-۴ کاربردهای اسپکترومتری جرمی ESI

فصل پنجم: شناسایی مولکولی

سنجش های زیستی، زیست حسگرها، ردیف های DNA و تعیین توالی گرمائی

- ۱۱۷- ۱-۵ سنجش های زیستی
- ۱۱۸- ۱-۱-۵ آنتی بادی ها

- ۱۲۱-..... ۵-۱-۲- آنتی ژن ها
- ۱۲۲-..... ۵-۱-۳- تشکیل کمپلکس آنتی ژن- آنتی بادی
- ۱۲۳-..... ۵-۱-۴- انواع سنجش
- ۱۲۸-..... ۵-۱-۵- تست حاملگی خانگی
- ۱۳۰-..... ۵-۱-۶- سنجش های ایمونوآنزیمی (EI , ELISA)
- ۱۳۳-..... ۵-۲- زیست حسگرها
- ۱۳۵-..... ۵-۲-۱- زیست گیرنده ها
- ۱۳۷-..... ۵-۲-۲- انتقال دهنده ها
- ۱۳۹-..... ۵-۲-۳- حسگر گلوکز خون
- ۱۴۰-..... ۵-۳- ردیف های اتصال DNA
- ۱۴۱-..... ۵-۳-۱- اصول ردیف های DNA
- ۱۴۲-..... ۵-۳-۲- ساخت ردیف های DNA
- ۱۴۳-..... ۵-۳-۳- توسعه و آنالیز یک ردیف DNA
- ۱۴۴-..... ۵-۳-۴- تعیین توالی DNA با ردیف ها
- ۱۴۶-..... ۵-۳-۵- سایر کاربردهای ردیف های DNA
- ۱۴۶-..... ۵-۴- شناسایی DNA بوسیله تعیین توالی گرمایی
- ۱۴۷-..... ۵-۴-۱- اصول تعیین توالی گرمایی
- ۱۵۰-..... ۵-۴-۲- تهیه نمونه و ابزار
- ۱۵۰-..... ۵-۴-۳- کاربردهای تعیین توالی گرمایی

فصل ششم: اسیدهای نوکلئیک

تعیین توالی و تکثیر

- ۱-۶- عصاره‌گیری و جداسازی اسیدهای نوکلئیک ----- ۱۵۲
- ۱-۱-۶- سانتریفیوژ براساس شیب غلظت CsCl ----- ۱۵۳
- ۲-۱-۶- جداسازی کل DNA سلولی ----- ۱۵۴
- ۳-۱-۶- جداسازی RNA- روش پروتئیناز K ----- ۱۵۴
- ۲-۶- تکثیر اسیدهای نوکلئیک- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) ----- ۱۵۵
- ۱-۲-۶- اصول PCR ----- ۱۵۵
- ۲-۲-۶- میزان تکثیر در طول یک PCR ----- ۱۵۸
- ۳-۲-۶- معرف‌های PCR ----- ۱۶۰
- ۴-۲-۶- Real time PCR ----- ۱۶۱
- ۵-۲-۶- PCR رونویسی معکوس (RT-PCR) ----- ۱۶۴
- ۳-۶- تعیین توالی اسیدهای نوکلئیک ----- ۱۶۵
- ۱-۳-۶- استفاده از آنزیم‌های محدود کننده در تعیین توالی ----- ۱۶۵
- ۲-۳-۶- روش شکست شیمیایی (روش ماکسام-گیلبرت) ----- ۱۶۷
- ۳-۳-۶- روش خاتمه زنجیر (روش سنگر یا دی دئوکسی) ----- ۱۷۲
- ۴-۶- تعیین توالی RNA ----- ۱۷۵

فصل هفتم: تعیین توالی پروتئین

- ۱-۷- راه‌کار تعیین توالی پروتئین ----- ۱۷۸
- ۲-۷- آنالیز گروه انتهایی ----- ۱۷۸
- ۱-۲-۷- آنالیز انتهای N (تخریب ادمن) ----- ۱۷۸

۱۸۳----- ۷-۲-۲- آنالیز انتهای C

۱۸۴----- ۷-۳- شکست پیوند دی سولفید

۱۸۶----- ۷-۴- جداسازی و تعیین وزن مولکولی زیر واحدهای پروتئین

۱۸۶----- ۷-۵- ترکیب اسید آمینه

۱۸۸----- ۷-۶- شکست پیوندهای پپتیدی ویژه

۱۸۸----- ۷-۶-۱- قطعه قطعه کردن آنزیمی

۱۹۱----- ۷-۶-۲- روش های قطعه قطعه کردن شیمیایی

۱۹۳----- ۷-۷- تعیین توالی

۱۹۴----- ۷-۸- مرتب کردن قطعات پپتیدی

۱۹۵----- ۷-۹- تعیین موقعیت های پیوند دی سولفیدی

۱۹۵----- ۷-۱۰- تعیین توالی پروتئین بوسیله اسپکترومتری جرمی